

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 08-173175

(43)Date of publication of application : 09.07.1996

(51)Int.Cl.

C12P 9/00
C07C319/20
C07C323/51

(21)Application number : 06-318014

(71)Applicant : DAICEL CHEM IND LTD

(22)Date of filing : 21.12.1994

(72)Inventor : MATSUYAMA AKIKAZU

(54) PRODUCTION OF ALPHA-HYDROXY-4-METHYLTHIOBUTYRIC ACID

(57)Abstract:

PURPOSE: To obtain an α -hydroxy-4-methylthiobutyric acid derivative at normal temperatures under atmospheric pressure without producing ammonium sulfate by reacting α -hydroxy-4-methylthiobutyronitrile with a specific microorganism or its treated substance.

CONSTITUTION: α -Hydroxy-4-methylthiobutyronitrile is reacted with a microorganism having the ability to convert the α -hydroxy-4-methylthiobutyronitrile into α -hydroxy-4-methylthiobutyric acid or its treated substance. A microorganism such as Bacteridium sp. R341 (FERM P-2719) or Pilimelia terevasa IFO-14556 or its treated microbial cell is preferred. The α -hydroxy-4-methylthiobutyric acid is useful as a feed additive to be added to a feed for livestock, especially fowls in order to supplement the insufficiency of amino acids containing sulfur.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 06.11.2000

[Date of sending the examiner's decision of rejection] 19.08.2003

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection] 2003-17134

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection] 04.09.2003

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

書誌

(19)【発行国】日本国特許庁(JP)
(12)【公報種別】公開特許公報(A)
(11)【公開番号】特開平8-173175
(43)【公開日】平成8年(1996)7月9日
(54)【発明の名称】 α -ヒドロキシ-4-メチルチオ酪酸の製造方法
(51)【国際特許分類第6版】

C12P 9/00

C07C319/20

323/51

7419-4H

【審査請求】未請求
【請求項の数】3
【出願形態】OL
【全頁数】5
(21)【出願番号】特願平6-318014
(22)【出願日】平成6年(1994)12月21日
(71)【出願人】
【識別番号】000002901
【氏名又は名称】ダイセル化学工業株式会社
【住所又は居所】大阪府堺市鉄砲町1番地
(72)【発明者】
【氏名】松山 彰収
【住所又は居所】新潟県新井市中川125

要約

(57)【要約】
【目的】微生物あるいはその処理物を用いて、 α -ヒドロキシ-4-メチルチオ酪酸を得る。
【構成】 α -ヒドロキシ-4-メチルチオブチロニトリルに微生物あるいはその処理物を作用させて、 α -ヒドロキシ-4-メチルチオ酪酸を製造する。

請求の範囲

【特許請求の範囲】

【請求項1】 α -ヒドロキシ-4-メチルチオブチロニトリルを α -ヒドロキシ-4-メチルチオ酪酸に変換させる能力を有する微生物あるいはその処理物を α -ヒドロキシ-4-メチルチオブチロニトリルに作用させ、 α -ヒドロキシ-4-メチルチオブチロニトリルを α -ヒドロキシ-4-メチルチオ酪酸に変換させることを特徴とする α -ヒドロキシ-4-メチルチオ酪酸の製造方法。
【請求項2】微生物が、パントエア(Pantoea)属マイクロコッカス(Micrococcus)属バクテリジウム(Bacteridium)属バチラス(Bacillus)属アクチノマツラ(Actinomadura)属キタサトスポラ(Kitasatospora)属ピリメリア(Pilimelia)属アクロモバクター(Achromobacter)属ベイジェリンキア(Beijerinckia)属セルロモナス(Cellulomonas)属クレブシエラ(Klebsiella)属アクチノポリスポラ(Actinopolispora)属アクチノシンネマ(Actinosynnema)属アクチノプランス(Actinopulane s)属アミコラタ(Amycolata)属サッカロポリスポラ(Saccharopolyspora)属ストレプトマイセス(Streptomyces)属ノカルチオイデス(Nocardioide s)属プロビデンシア(Providencia)属マイクロバクテリウム(Microbacterium)属ロドバクター(Rhodobacter)属ロドスピリリウム(Rhodospirillum)属に属する菌株である請求項1記載の製造法。
【請求項3】微生物の α -ヒドロキシ-4-メチルチオブチロニトリルを α -ヒドロキシ-4-メチルチオ酪酸に変換させる能力を発現、あるいは増大させる誘導源がイソバレロニトリルである請求項1記載の製造法。

詳細な説明

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は α -ヒドロキシ-4-メチルチオ酪酸の製造法に関する。【0002】 α -ヒドロキシ-4-メチルチオ酪酸は、家畜、特に家禽の飼料に含硫アミノ酸類の不足を補う目的で添加される飼料添加物である。

【0003】

【従来の技術と問題点】 α -ヒドロキシ-4-メチルチオ酪酸の工業的製法としては α -ヒドロキシ-4-メチルチオブチロニトリルの硫酸による加水分解法が知られている。しかし、硫酸を用いた方法は多量の硫酸が副生し α -ヒドロキシ-4-メチルチオ酪酸の回収と精製工程も複雑となる。【0004】一方、最近、ニトリル化合物を微生物の作用により加水分解し対応する酸に変換するいくつかの方法が提案されており、 α -ヒドロキシニトリルからの α -ヒドロキシ酸の製造方法に関しては例えば、パチルス属、バクテリジウム属、マイクロコッカス属またはプレビバクテリジウム属の微生物によるラクトニトリルおよびヒドロキシアセトニトリルからの対応する酸の生産[特公昭58-15120号公報参照]、トルロプシス属酵母による対応する α -ヒドロキシニトリルからの光学活性なL- α -ヒドロキシパレリアン酸およびL- α -ヒドロキシイソカプロン酸の生産[Fukuda Y., et al. J. Ferment. Technol. 51 393(1973) 参照]、コリネバクテリウム属の微生物を用いたグリコロニトリル、ラクトニトリルおよびアセトンシアンヒドリンの加水分解による対応する α -ヒドロキシ酸の生産[特開昭61-56086号公報参照]およびアルカリゲネス属、シュードモナス属、ロドシュードモナス属、コリネバクテリウム属、アシネトバクター属、パチルス属、マイコバクテリウム属、ロドコッカス属またはキャンディダ属に属する微生物による α -ヒドロキシニトリルからの光学活性な α -ヒドロキシ酸の生産[特開平2-84198号公報参照]などが示されている。しかし、微生物を用いた α -ヒドロキシ-4-メチルチオ酪酸の製法に関する報告はカセオバクター属、シュードモナス属、アルカリゲネス属、コリネバクテリウム属、プレビバクテリウム属、ノカルジア属、ロドコッカス属、アースロバクター属の微生物[特開平4-40898号公報参照]のみに示されている。

【0005】

【問題点を解決するための手段】本発明者らはこのよう従来の製造方法に対し、硫酸の生成がなく、エネルギー的にも工業的に有利な α -ヒドロキシ-4-メチルチオ酪酸の製造方法の開発を目的として、 α -ヒドロキシ-4-メチルチオブチロニトリルから α -ヒドロキシ-4-メチルチオ酪酸を生産する能力を有する微生物の探検を広範囲に行った結果、パントエア(Pantoea)属マイクロコッカス(Micrococcus)属バクテリジウム(Bacteridium)属バチラス(Bacillus)属アクチノマヅラ(Actinomadura)属キタサトスポラ(Kitasatospora)属ピリメリア(Pilimelia)属アクロモバクター(Achromobacter)属ベイジェリンキア(Beijerinckia)属セルロモナス(Cellulomonas)属クレブシエラ(Klebsiella)属アクチノポリスポラ(Actinopolispora)属アクチノシンネマ(Actinosynne ma)属アクチノプラネス(Actinopulanes)属アミコラタ(Amycolata)属サッカロポリプポラ(Saccharopolyspora)属ストレプトマイセス(Streptomyces)属ノカルチオイデス(Nocardioides)属プロビデンシア(Providencia)属マイクロバクテリウム(Microbacterium)属ロドバクター(Rhodobacter)属ロドスピリウム(Rhodospirillum)属に属する微生物に目的とする変換活性を見出し本発明を完成した。【0006】すなわち、本発明は、 α -ヒドロキシ-4-メチルチオブチロニトリルを α -ヒドロキシ-4-メチルチオ酪酸に変換させる能力を有する微生物あるいはその処理物を α -ヒドロキシ-4-メチルチオブチロニトリルに作用させ、 α -ヒドロキシ-4-メチルチオブチロニトリルを α -ヒドロキシ-4-メチルチオ酪酸に変換させることを特徴とする α -ヒドロキシ-4-メチルチオ酪酸の製造方法である。

【0007】本発明で使用する微生物は、パントエア(Pantoea)属マイクロコッカス(Micrococcus)属バクテリジウム(Bacteridium)属バチラス(Bacillus)属アクチノマヅラ(Actinomadura)属キタサトスポラ(Kitasatospora)属ピリメリア(Pilimelia)属アクロモバクター(Achromobacter)属ベイジェリンキア(Beijerinckia)属セルロモナス(Cellulomonas)属クレブシエラ(Klebsiella)属アクチノポリスポラ(Actinopolispora)属アクチノシンネマ(Actinosynnema)属アクチノプラネス(Actinopulanes)属アミコラタ(Amycolata)属サッカロポリプポラ(Saccharopolyspora)属ストレプトマイセス(Streptomyces)属ノカルチオイデス(Nocardioides)属プロビデンシア(Providencia)属マイクロバクテリウム(Microbacterium)属ロドバクター(Rhodobacter)属ロドスピリウム(Rhodospirillum)属に属する菌株であればいずれも使用することが出来るが、具体的な例として例えば、パントエア アグロメランズ(Pantoea agglomerans) NH-3 (FERM-P1134 9)

マイクロコッカス エスピー(Micrococcus sp.) A111 (FERM-P2720)

バクテリジウム エスピー(Bacteridium sp.) R341 (FERM-P2719)

バクテリジウム エスピー(Bacteridium sp.) R340 (FERM-P2718)

バチラス エスピー (*Bacillus* sp.) R332 (FERM-P2717)、アクマヅラ クレメーラ サブスピシーズ クレメーラ (*Actinomyces cremea* subsp. *cremea*) IFO 14182 キタサトスポラ セタエ (*Kitasatospora setae*) IFO 14216 ピリメリア テレバサ (*Pilimelia terevasa*) IFO 14556 アクロモバクター セロシス (*Achromobacter xerosis*) IFO 12668 ベイジェリンキア インディカ サブスピシーズ インディカ (*Beijerinckia indica* subsp. *indica*) IFO 3744 セルロモナス フラビジェナ (*Cellulomonas flavigena*) IFO 3754 クレブシエラ フェナウモニエ サブスピシーズ フェナウモニエ (*Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae*) NH-36 (FERM-P11739) アクチノポリスποラ ハロフィラ (*Actinopolispora halophila*) IFO 14106 アクチノシンネマ ミラム (*Actinosynnema mirum*) IFO 14064 アクチノプラネス ロバタス (*Actinopulanes lobatus*) IFO 12513 アミコラタ アウトロフィカ (*Amycolata autotrophica*) IFO 12743 サッカロポリプポラ レクチヴィルグラ (*Saccharopolysporarectivirgula*) IFO 12134 ストレプトマイセス エスピー (*Streptomyces* sp.) IFO 13809 ノカルジオイデス フラバス (*Nocardioides flavus*) IFO 14396 プロビデンシア スタアルティ (*Providencia stuartii*) IFO 12930 ミクロバクテリウム ラクチカム (*Microbacterium lacticum*) IFO 14135 ロドバクター セフェロイデス (*Rhodobacter sphaeroides*) IFO 12203 ロドスピリリウム ルブラム (*Rhodospirillum rubrum*) IFO 3986 等を挙げることができる。また、これらの変異株を用いることもできる。これらは公知の微生物であり、発酵研究所 (IFO)、工業技術院微生物工業技術研究所から容易に入手することができる。

【0008】次に本発明の一般的実施態様について説明する。本発明に使用される微生物の培地としては、通常資化し得るグリコース、グリセロール等の炭素源、硫酸アンモニウム、硝酸アンモニウムなどの窒素源、塩化マグネシウム、塩化第二鉄などの無機栄養素を含有する培地か、これらの培地に酵母エキス、肉エキスなどの天然培地を添加したものを用いることができる。誘導源として各々の微生物に適したイソバレロニトリル、イソブチロニトリル、ベンゾニトリルなどのニトリル化合物、またはアセトアミド、プロピオアミドなどのアミド化合物等を用いることもある。

【0009】培養条件は、微生物が生育する条件であれば良いが、例えば pH2~12、温度5~50°Cの範囲が望ましく、更に好ましくは好気性条件下で pH4~10、温度20~50°Cの範囲で選べばよく、培養日数は数時間から10日程の範囲で活性が最大となるまで培養すればよい。

【0010】反応方法は液体培地または平板培地上にて培養した菌体を採取し、必要に応じ固定化菌体、粗酵素、固定化酵素などの菌体処理物を調製し、*n*-ヘキサン、酢酸エチルなどの適当な溶媒に溶かした α -ヒドロキシ-4-メチルチオブチロニトリルと水、緩衝液などとの二相系による反応、または α -ヒドロキシ-4-メチルチオブチロニトリルを水、緩衝液またはエタノール等の水溶性溶媒に溶かして直接菌体または菌体処理物の懸濁液中に混合して行うことができる。

【0011】反応条件としては、菌体使用量0.01~70重量%、 α -ヒドロキシ-4-メチルチオニトリル濃度0.1~80重量%で基質は反応媒体中で完全に溶解しなくてもよい。反応温度は反応が進行する温度であればよいが1~60°C、好ましくは5~40°C、反応pHは3~12、好ましくは6~10で5分から100時間程度反応させればよい。かくして α -ヒドロキシ-4-メチルチオブチロニトリルは、 α -ヒドロキシ-4-メチルチオブチロ酪酸に変換、蓄積される。

【0012】生成物の単離は濃縮、イオン交換、電気透析、抽出、晶析などの公知の方法を利用して行うことができる。

【0013】

【発明の効果】本発明によれば、 α -ヒドロキシ-4-メチルチオニトリルを α -ヒドロキシ-4-メチルチオブチロ酪酸に変換する能力を有する微生物を用いることにより、常温、常圧という温和な条件下で反応を進行させ、副生物として硫安を生成しない α -ヒドロキシ-4-メチルチオ酪酸の工業的に有利な製法を提供することができる。

【0014】次に、本発明を実施例によりさらに詳細に説明するが、本発明はこれら実施例に限定されるものではない。

【0015】

【実施例1】

(A) 培養表1に示す菌体を下記により培養した。

【0016】1) 培地〔単位: W/V〕

グリセロール 2% 酵母エキス 0.3% リン酸-カリウム 0.5% リン酸二ナトリウム 0.5% 硫酸ナトリウム 0.1% 硫酸マグネシウム 0.05% 塩化カルシウム 0.005% 硫酸マンガン 1×10^{-4} % 塩化鉄 1×10^{-5} % 硫酸亜鉛 1×10^{-5} % PH 7.2 さらに、誘導剤としてイソバレロニトリル0.2%を添加した。

【0017】2) 培養条件 斜面培地から1白金耳の菌体を探り、上記液体培地6ml/21mm試験管に接種し、30°Cで48時間好気条件下に振盪培養した。

【0018】(B) 反応液体培地から菌体を遠心分離により集菌して各々の菌体を0.05Mリン酸緩衝液(pH7.0)で3回洗浄した。菌体を1.5 mlの同様の緩衝液に再懸濁し終濃度50mMの α -ヒド

ロキシ-4-メチルチオベンチロニトリルを添加し30℃で24時間、振盪しながら反応を行った。反応終了後、各々の反応液を遠心分離し菌体を除去し、遠心上清中の α -ヒドロキシ酸は液体クロマトグラフィー(カラム; UNISIL-PAC 5C18-250A、キャリア; 0.1%リン酸:アセトニトリル=9:1、カラム温度; 40℃、検出; 210nm)により定量した。

【0019】結果を表1に示した。

【0020】

【表1】

微生物名	α -ヒドロキシ-4-メチルチオ酪酸 (ng/ml)
<i>Pantoea agglomerans</i> NH-3(FERM-P11349)	5.4
<i>Micrococcus</i> sp. A111(FERM-P2720)	5.3
<i>Bacteridium</i> sp.R341(FERM-P2719)	7.9
<i>Bacteridium</i> sp.R340(FERM-P2718)	5.3
<i>Bacillus</i> sp.R332(FERM-P2717)	5.5
<i>Actinomadura cremea</i> subsp. <i>cremea</i> IFO 14182	2.0
<i>Kitasatosporia setae</i> IFO 14216	2.0
<i>Pilimelia terevasa</i> IFO 14556	7.2
<i>Achromobacter xerosis</i> IFO 12668	2.1
<i>Beijerinckia indica</i> subsp. <i>indica</i> IFO 3744	6.2
<i>Cellulomonas flavigena</i> IFO 3754	4.4
<i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. <i>pneumoniae</i> NH-36(FERM-P11739)	1.4
<i>Actinopolyspora halophila</i> IFO 14106	0.1
<i>Actinosynnema mirum</i> IFO 14064	0.3
<i>Actinoplanes lobatus</i> IFO 12513	0.5
<i>Amycolata autotrophica</i> IFO 12743	0.7
<i>Saccharopolyspora rectivirgula</i> IFO 12134	0.5
<i>Streptomyces</i> sp. IFO 13809	0.1
<i>Nocardioides flavus</i> IFO 14396	0.5
<i>Providencia stuartii</i> IFO 12930	0.4
<i>Microbacterium lacticum</i> IFO 14135	0.5
<i>Rhodobacter spheroides</i> IFO 12203	0.1
<i>Rhodospirillum rubrum</i> IFO 3986	0.1